

THESIS

MÜNICH

1967

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ZENTRALE UND
PERIPHERE WIRKSAMKEIT VON CHOLINOMIMETICA
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER LIPOIDLÖSLICHKEIT

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

Hannelore Holzhäuser



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153305_0160

AUS DEM MAX-PLANCK -INSTITUT FÜR PSYCHIATRIE
(DEUTSCHE FORSCHUNGSANSTALT FÜR PSYCHIATRIE)
MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. med. G. PETERS

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ZENTRALE UND PERIPHERE
WIRKSAMKEIT VON CHOLINOMIMETICA IN ABHÄNGIGKEIT
VON DER LIPOIDLÖSLICHKEIT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hannelore H o l z h ä u s e r
aus Braunschweig

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. A. HERZ
Korreferent:	Professor Dr. M. KIESE
Dekan:	Professor Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 11. 1967

MEINEN ELTERN

gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

B. METHODIK

- I. Versuche an Kaninchen
 1. Tiergut
 2. Ableitung des Elektroencephalogramms
 3. Curarisierung des Tieres
 4. Blutdruckmessung
 5. Speichelsekretion
 6. Verabfolgung der Cholinomimetica
- II. Versuche an Katzen
- III. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten
 1. Spektrophotometrische Methodik
 2. Gravimetrische Methodik

C. ERGEBNISSE

- I. Tierversuche
 1. Beschreibung des Versuchsablaufes beim Kaninchen
 2. Schwellendosen für zentrale und periphere Wirkungen an Kaninchen
 3. Atropinantagonismus der Cholinomimetica
 4. Zentrale Wirkung von Eumydrin
 5. Verhältnis zentrale/periphere Wirkung nach Atropin
 6. Wirkungen der Cholinomimetica auf den Blutdruck
 - a. Blutdrucksenkung
 - b. Blutdrucksteigerung
 - b₁ Durch periphere nicotinartige Wirkung ausgelöste Blutdrucksteigerung
 - b₂ Durch zentrale muscarinartige Wirkung ausgelöste Blutdrucksteigerung
 7. Wirkungen von Arecolin und Muscarin an der Katze
- II. Ergebnisse der Bestimmung der Verteilungskoeffizienten
 1. Die Verteilungskoeffizienten
 2. Beziehung zwischen Lipoidlöslichkeit und relativer zentraler Wirksamkeit der Cholinomimetica am Kaninchen

D. DISKUSSION

- I. Zentrale und periphere muscarinartige und nicotinartige Wirkungen der Cholinomimetica
- II. Das Verhältnis zentrale/periphere muscarinartige Wirkung und die Beziehung zum Verteilungskoeffizienten
- III. Vergleich der Ergebnisse an Katzen und Kaninchen

E. ZUSAMMENFASSUNG

F. LITERATURVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

Cholinomimetica beeinflussen das periphere und das zentrale Nervensystem (NS). Die erstmals von DALE (1914) getroffene Unterscheidung zwischen "muscarin-" und "nicotinartigen" Wirkungen bezog sich zunächst ausschließlich auf die peripheren Wirkungen. DALE bezeichnete durch kleine Atropindosen aufhebbarere Wirkungen der Cholinesterase als "muscarinartig" und solche, die durch hohe Dosen Nicotin gehemmt werden, als "nicotinartig". Die muscarinartige Wirkung entspricht - nach DALE - der Erregung postganglionärer parasymphathischer Nervenendigungen, die nicotinartige der Erregung autonomer Ganglien, des Nebennierenmarks und der motorischen Endplatten.

In neuerer Zeit zeigte sich, daß die Begriffe "muscarin"- und "nicotinartig" auch auf die zentralen Wirkungen der Cholinomimetica anwendbar sind. Während jedoch die zentralen muscarinartigen Wirkungen, wie die Hemmung bedingter Reaktionen (PFEIFFER et al. 1957; FUNDERBURK et al. 1947; HERZ 1962), die Reaktionsverminderung auf nociceptive Reize (HERZ 1962) und die Beeinflussung der elektrischen Aktivität des Gehirns (RIEHL et al. 1960; HERZ 1963) auf Grund ihrer Atropinempfindlichkeit gut zu erfassen sind, lassen sich die zentralen nicotinartigen Wirkungen nicht so eindeutig von anderen Einflüssen auf das Zentralnervensystem (ZNS) abgrenzen.

Der vermeintliche Widerspruch, der darin liegt, daß die muscarinartige Wirkung in der Peripherie durch einen postganglionären, im ZNS hingegen durch einen ganglionären Angriff der Cholinomimetica ausgelöst wird, ist durch spätere Untersuchungen in ein anderes Licht gerückt worden, die erbrachten, daß diese Substanzen auch an den Ganglienzellen des peripheren NS eine muscarinartige, d. h. durch kleinste Atropindosen hemmbare Erregung auslösen (VOLLE 1965). Diese Ergebnisse zeigen, daß der Ausdruck "nicotinartige" Wirkung nicht mit "Ganglienwirkung" gleichgesetzt werden kann, und daß sich der Begriff "muscarinartig" nur auf die Atropinempfindlichkeit bezieht, die aber nicht auf die Wirkungen an den Endigungen des parasymphathischen NS beschränkt ist.

Aus der Atropinempfindlichkeit der muscarinartigen Wirkungen kann gefolgert werden, daß Cholinomimetica im ZNS und in der Peripherie mit grundsätzlich gleich oder ähnlich beschaffenen Rezeptoren (dem "Muscarinrezeptor") reagieren. Von dieser Annahme gehen die vorliegenden Untersuchungen aus, in denen die muscarinartigen Wirkungen einiger Cholinomimetica bestimmt wurden. Das Verhältnis der zentralen zur peripheren Wirkung ("relative" zentrale Wirksamkeit) sollte dann mit der Lipidlöslichkeit der Substanzen verglichen werden.

Die zentrale Wirkung dieser Pharmaka wurde an Hand ihres Einflusses auf die elektrische Aktivität des Gehirns des wachen Kaninchens untersucht. Übereinstimmend mit anderen Mitteilungen beobachteten wir das Auftreten einer EEG-Weckreaktion (BRADLEY et al. 1957; RIEHL et al. 1960; LONGO 1962; RINALDI et al. 1955). Der Mechanismus, der zu diesem Hirnstrombild führt, ist bislang noch umstritten. RINALDI und HIMWICH (1955) vermuten, daß der spezifische Angriffspunkt von Atropin und Cholinomimetica das im Hirnstamm gelegene mesodiencephale aktivierende System ist, an dessen Funktion ein cholinergischer Mechanismus beteiligt sein soll. Hingegen schließen BRADLEY und Mitarbeiter (1957. 1958) aus der schon von WIKLER (1952) beobachteten Dissoziation zwischen EEG und Verhalten des Tieres und aus Transsektionsversuchen, daß diese Substanzen nicht nur auf den Hirnstamm wirken und der Angriff cholinergischer Strukturen des Gehirns zu einer Störung der normalen Korrelation zwischen elektrischer Aktivität und den Verhaltensformen Schlafen und Wachsein führt.

Die peripheren muscarinartigen Wirkungen der Cholinomimetica - als Maß diente uns die Auslösung der Speichelsekretion - werden im Gegensatz zu den zentralen Wirkungen auch durch Cholinolytika mit quaternärer Aminstruktur aufgehoben. Die auffallend geringe zentrale Wirksamkeit der atropinartigen Körper mit quaternär gebundenem Stickstoff im Vergleich zu denen mit tertiär gebundenem Stickstoff ist schon seit langer Zeit bekannt. Als Erklärung für diesen Wirkungsunterschied wurde die Beobachtung, daß quaternäre Stickstoffverbindungen gar nicht oder nur sehr langsam in das ZNS eindringen (MAYER et al. 1956), häufig in Betracht gezogen.

Die besonderen Verhältnisse bei dem Übertritt von Substanzen aus dem Blut in das ZNS sind daher der Gegenstand vieler Untersuchungen in früherer und neuerer Zeit geworden. Sie werden durch den Begriff der sogenannten Blut-Gehirn-Schranke (BGS) charakterisiert. Die Morphologie und Lokalisation der BGS - diskutiert werden das Kapillarendothel und die Gliaendfüßchen - ist zwar noch umstritten, jedoch weisen die Ergebnisse vieler Arbeiten darauf hin, daß die BGS Lipoidcharakter besitzt und daß die Permeation der Substanzen vorwiegend transzellulär erfolgt (CURTIS et al. 1958; DAVSON et al. 1963; BRODIE et al. 1960; MAYER et al. 1959; DOBBING 1961, 1963; SCHANKER 1964).

Die Bedeutung physikalisch-chemischer Eigenschaften der Substanzen für ihr Permeationsvermögen in das ZNS wird in allen Untersuchungen betont. Die wichtigsten Faktoren sind der geringe Ionisationsgrad bei physiologischem pH-Wert und hohe Lipidlöslichkeit des undissoziierten Anteils der

Substanz (RALL et al. 1962; MARK et al. 1958; MAYER et al. 1959; CURTIS et al. 1958; BRODIE et al. 1960).

Da Ionen im allgemeinen nur sehr wenig oder gar nicht lipidlöslich sind, bestimmt der Ionisationsgrad bei pH 7,4 den Anteil der für die einfache, passive Diffusion (MAYER et al. 1959) zur Verfügung stehenden nicht-ionisierten Substanz. Dessen LIPOIDLÖSLICHKEIT wiederum ist der maßgebende Faktor für die PERMEATIONSGESCHWINDIGKEIT eines Stoffes in das ZNS, welche die Zeit bis zur Gleichgewichtseinstellung bestimmt.

Als Maß der Lipidlöslichkeit wurde oftmals der Verteilungskoeffizient (VK) der Substanz zwischen Heptan und Puffer von pH 7,4 gewählt. Eine deutliche Abhängigkeit der Übertrittsgeschwindigkeit einer Substanz in den Liquor cerebrospinalis von der Größe des auf diese Weise gemessenen VK fanden BRODIE und Mitarbeiter (1960) bei einer großen Zahl von Verbindungen mit verschiedenster Struktur.

In einer vorangegangenen Arbeit versuchten HERZ und Mitarbeiter (1965), eine Beziehung zwischen der Lipidlöslichkeit und dem Verhältnis zentrale/periphere Wirkung von Cholinolytica mit quaternärer und tertiärer Aminstruktur nachzuweisen. Es zeigte sich eine enge Beziehung zwischen beiden Größen.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde die gleiche Frage an Hand der zentralen und peripheren muscarinartigen Wirkungen, die von den nicotinartigen Wirkungen abgegrenzt wurden, und der VK von einigen Cholinomimetica untersucht. Die Anregung zu diesen Versuchen gaben vor allem Mitteilungen über EEG-Untersuchungen an Katzen, in denen über eine starke zentrale Wirkung von Muscarin, einem Cholinomimeticum mit quaternär gebundenem Stickstoff berichtet wurde (RIEHL et al. 1960, 1962), was auf Grund obiger Ausführungen schwer verständlich erschien.

B. METHODIK

I. Versuche an Kaninchen

1. Tiergut

In 54 Versuchen wurde an wachen, curarisierten Kaninchen das Elektroencephalogramm, die Herzfrequenz, der Blutdruck und die Speichelsekretion registriert. Es wurden Tiere mit einem Körpergewicht von 2,3 - 3,3 kg verwendet. Auf Grund der Untersuchungen von HERZ (1963) wurden für Versuche, in denen der Atropinantagonismus der Cholinomimetica geprüft wurde, nur solche Tiere verwendet, die 1-Hyoscyamin fermentativ nicht abbauen konnten. Nach einer von WERNER und WÜRKER (1959) angegebenen Methode wurden die Tiere, die 30 Minuten nach Instillation von 0,5 μ -1-Hyoscyamin eine deutliche Pupillenerweiterung zeigten, als "Hyoscyaminesterase negativ" gewertet und für die Versuche mit Atropin verwendet.

Zur Fixierung des Tieres während der Präparation wurde ein hängemattenartiges Gestell (hammock) verwendet, in dem das Tier die Vorder- und Hinterpfoten frei bewegen konnte. Die Versuche wurden in einem ruhigen, abgedunkelten Raum durchgeführt.

2. Ableitung des Elektroencephalogramms

Das Elektroencephalogramm (EEG) wurde nach der stereotaktischen Methode von MONNIER und GANGLOFF (1961) abgeleitet. Am Vortag des Versuches wurden in Lokalanästhesie der Schädelknochen freipräpariert und unter Führung eines stereotaktischen Sockels die Trepanationen für die Elektroden angelegt. Am Versuchstag wurde der Sockel erneut aufmontiert; für die Ableitung von den corticalen Arealen wurden epidural liegende Silberelektroden eingeschraubt, für die Ableitung von den subcorticalen Strukturen wurden Tiefenelektroden aus Platin eingeführt. Es wurde vom Cortex motorius, Cortex sensomotorius, Cortex occipitalis, Hippocampus, Thalamus medialis und Thalamus ventrolateralis bipolar abgeleitet. Das EEG wurde mit dem Physioscript (SCHWARZER) fortlaufend registriert. Gleichzeitig wurde zur Bestimmung der Herzfrequenz das Elektrokardiogramm (Extremitätenableitung) aufgezeichnet.

3. Curarisierung des Tieres

Zu Beginn der Präparation wurde in Lokalanästhesie (2 %ige Novocainlösung) die Trachea freigelegt und eine Glaskanüle eingebunden. Nach Einführung der Elektroden für die Ableitung des EEGs wurde das Tier mit Gallamin (Flaxedil 5 mg/kg) immobilisiert und mit einer Starling-Pumpe (Frequenz 35-40/Min., Volumen etwa 30 ml) beatmet. Während des Versuches wurden stündlich 3 mg/kg Flaxedil nachinjiziert.

4. Blutdruckmessung

In 38 von 54 Versuchen wurde nach Verabfolgung von Chlorpromazin (2 - 4 mg/kg) in Lokalanästhesie die Arteria femoralis dextra oder sinistra freipräpariert und eine Kunststoffkanüle eingebunden. Über eine Druckkammer wurde der Blutdruck durch den Physioscript fortlaufend registriert, außerdem konnten die Werte an einem im Nebenschloß liegenden Quecksilbermanometer abgelesen werden. Durch gelegentliche Injektion einer sehr verdünnten Heparinlösung (Eleparon) und physiologischer Kochsalzlösung in die Arterie konnte ihre Verlegung durch Thromben verhindert werden.

5. Speichelsekretion

Durch Ausschaltung des Schluckaktes als eine Folge der Curarisierung und entsprechende Lagerung des Kopfes konnte der während des Versuches sezernierte Speichel aufgefangen und in einem fein graduierten Meßzylinder gemessen werden. Als Schwellendosis für die periphere muscarinartige Wirkung wurde die Dosis gewertet, die bei einer Beobachtungszeit von 10 Minuten die Sekretion von mindestens 0,2 ml Speichel auslöste. Bei sehr starkem Speichelfluß wurde der Flüssigkeitsverlust durch intravenöse Zufuhr von physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

6. Verabfolgung der Cholinomimetica

Die zu untersuchenden Substanzen wurden über einen in die Ohr- oder Femoralvene eingeführten weichen Polyäthylenschlauch verabfolgt. Die Injektionen wurden im Abstand von 10 Minuten vorgenommen.

Während der Beobachtungszeit wurden das EEG, das EKG, der Blutdruck und die Speichelsekretion fortlaufend registriert. Es wurde mit einer sehr kleinen Dosis des Cholinomimeticums begonnen, diese Dosis einmal wiederholt und bei den weiteren Injektionen dann jeweils verdoppelt. Dieses Akkumulativ-

verfahren, bei dem die Gesamtdosis in geometrischer Progression ansteigt, eignet sich sehr gut für die Aufstellung von Dosis-Wirkungs-Kurven von lang-wirkenden Substanzen an demselben Tier. Den Schwellendosen in den Ergebnissen liegen diese Gesamtdosen zu Grunde. Eine Ausnahme bildet Arecolin, das eine sehr kurze Wirkung hat. Hier wurde alle 5 Min. die doppelte Dosis injiziert und dem Schwellenwert die Einzeldosis zu Grunde gelegt.

II. Versuche an Katzen

In ähnlicher Weise wie am Kaninchen wurde das EEG an fünf "encéphale isolé" Präparationen der Katze vom motorischen und sensomotorischen Cortex durch epidural liegende Silberelektroden bipolar abgeleitet. In Äthernarkose wurde das Tier tracheotomiert, die Schädelkalotte freipräpariert und die Membrana atlanto-occipitalis dargestellt. Nach Eröffnung der Membran wurde das Rückenmark stumpf durchtrennt und das Tier mit einer Starling-Pumpe künstlich beatmet (Frequenz 40 - 45/Min., Volumen etwa 25 ml). Nach Anlagen der Trepanationen und Einführung der Elektroden wurde das Tier zwei Stunden in dem ruhigen, abgedunkelten Versuchsraum belassen, ehe mit dem Versuch begonnen wurde. Wie am Kaninchen wurde über eine Druckkammer der Blutdruck in der Arteria femoralis dextra oder sinistra gleichzeitig mit dem EEG und EKG registriert (Physioscript SCHWARZER). Die zu untersuchenden Substanzen wurden durch einen in die Vena saphena eingeführten Polyäthylenschlauch verabfolgt. Arecolin wurde alle 5 Min., Muscarin im Abstand von etwa 10 Min. unter Wertung der Einzeldosis injiziert.

III. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten

1. Spektrophotometrische Methodik

Als Maß für die Lipoidlöslichkeit der Cholinomimetica wurden ihre Verteilungskoeffizienten (VK) zwischen Heptan und Puffer nach der von TESCHE-MACHER (1966) angegebenen Methodik bestimmt. Ihrer chemischen Struktur nach handelt es sich bei den Substanzen um schwache Basen, die bei Lösung in einem Puffersystem teilweise in dissoziierter Form vorliegen. Da Ionen im allgemeinen lipoidunlöslich sind, ist das Verhältnis dissoziierte/undissoziierte Substanz bei einem gegebenen pH-Wert mitbestimmend für die Größe des VK. Zunahme des Ionisationsgrades - in diesem Fall durch absinkende pH-Werte - bewirkt eine Erniedrigung des VK. Es wurde deshalb

eine Pufferlösung von pH 7,4 verwendet, die dem physiologischen pH-Wert in etwa entspricht und so eine Übertragung der in-vitro gemessenen Werte auf in-vivo Verhältnisse erlaubt.

Die als Salze vorliegenden Substanzen wurden in 0,2 molarem Phosphatpuffer von pH 7,4 gelöst und ihre Konzentration in der wässrigen Phase vor und nach 1/2 - 1 stündigem Schütteln mit n-Heptan gemessen. Das Volumenverhältnis Heptan/Puffer wurde nach Möglichkeit so gewählt, daß während des Verteilungsvorganges etwa 30 - 50 % der Substanz von der wässrigen in die Lipoidphase übertrat. Die Konzentration vor der Verteilung betrug 0,02 - 1 mg Salz/ml. Eine Änderung des pH-Wertes durch den Substanzverlust an die Lipoidphase brauchte bei diesen niedrigen Ausgangswerten nicht befürchtet zu werden.

Die Eigenschaft der hier verwendeten Cholinomimetica, im UV-Bereich von 200 - 400 $m\mu$ zu absorbieren, ermöglichte die Konzentrationsbestimmung auf spektrophotometrischem Wege. Von allen Substanzen wurden die Absorptionskurven aufgenommen und für die Konzentrationsbestimmungen vor und nach der Verteilung die Extinktionswerte im Bereich eines Maximums und eines Anstiegs der Absorptionskurve gemessen.

Die Ausgangskonzentrationen wurden so gewählt, daß bei den verwendeten Wellenlängen die Extinktionswerte im optimalen Meßbereich des Spektrophotometers lagen. Die Gültigkeit des LAMBERT-BEER'schen Gesetzes für die gewählten Konzentrationen wurde überprüft. Die Messungen wurden mit einem BECKMANN-Quarz-Spektrophotometer vom Typ DU ausgeführt.

Bei Substanzen, die als Hydrobromide oder Hydrochloride vorlagen, konnte die Absorption des Anions bei den hier verwendeten Konzentrationen und Wellenlängen unberücksichtigt bleiben (TESCHEMACHER 1966). Hingegen störte die Absorption des Jodid-Ions im Bereich von 270 - 200 $m\mu$ bei den Substanzen Muscarin und Muscaron. Für die Substanz DMPP konnte durch Aufnahme der Spektren vor und nach Überführung des Jodids in ein Chlorid - durch Oxydation des Jodid-Ions zu elementarem Jod mit H_2O_2 und nachfolgender Ätherextraktion und durch Fällung als Silberjodid - nachgewiesen werden, daß die Extinktion in dem zur Konzentrationsbestimmung verwendeten Wellenbereich auf das organische Kation zurückzuführen war.

2. Gravimetrische Methodik

Bei den Substanzen d,1-Muscarin jodid und d,1-Muscaron jodid war die im UV-Bereich gemessene Absorption allein auf das Jodid-Ion zurückzuführen. Die spektrophotometrische Methode konnte daher nicht angewendet werden.

Es wurden deshalb mit gravimetrischer Methodik Maximalwerte der VK für diese beiden Substanzen ermittelt.

Eine Lösung von 10 mg Muscarinbase/ml 0,2 molarem Phosphatpuffer wurde mit Heptan im Verhältnis 1 : 1000 zwei Stunden geschüttelt. Nach Trennung der beiden Phasen wurde das Heptan mit Aqua bidest. im Verhältnis 1000 : 1 versetzt und wiederum zwei Stunden geschüttelt, um die in das Heptan übergetretene Substanz zu extrahieren. Danach wurden 4/5 des Aqua bidest. im Vakuum über Phosphorpentoxid bis zur Gewichtskonstanz abgedampft und der Rückstand auf einer METTLER Waage vom Typ M 5 ausgewogen. Dieser Rückstand setzt sich aus zwei Anteilen zusammen; aus der Blindwertauswaage und aus der bei der Verteilung in das Heptan übergegangenen Substanzmenge.

Bei dem zu erwartenden sehr kleinen VK konnte die bei der Extraktion im Heptan verbleibende Substanzmenge vernachlässigt werden.

Der Blindwert wurde bei gleichem Versuchsablauf mehrmals bestimmt und der Mittelwert zu den Auswaagen der Verteilungsversuche in Beziehung gesetzt. Es läßt sich für eine angenommene Konzentration in der Extraktionslösung daraus ein VK berechnen, der als Maximalwert angesehen werden kann, wenn die tatsächlich bestimmte Konzentration unter der angenommenen liegt. Bei beiden Substanzen wurden die Maximalwerte berechnet aus einer angenommenen Differenz von 10 Gamma zwischen Meßwert und Mittelwert der Blindversuche, die tatsächliche Differenz betrug ≤ 10 Gamma.

IV. Substanzen

Folgende Cholinomimetica wurden untersucht:

1. d,l-Muscarin jodid (Geigy AG, Basel)
2. d,l-Muscaron jodid (Geigy AG, Basel)
3. RS 86 hydrobromid (Spiro-(N'-methyl-piperidyl-4')-N-äthylsuccinimid) (Sandoz AG, Basel)
4. Oxo-Tremorin hydrochlorid (0,1 %ige Lösung, May und Baker Ltd., Dagenham-Essex, England)
5. Oxo-Tremorin oxalat (Dr. A.K. Cho, University of California, Los Angeles, U.S.A.)
6. Arecolin hydrobromid
7. Pilocarpin hydrobromid
8. Nicotin bitartrat
9. DMPP (1,1 Dimethyl-4-phenyl-piperazinium jodid) (Dr. Chen, Parke, Davis & Co., Detroit, U.S.A.)

Ferner wurden verwendet:

1. Atropinsulfat
2. Atropin methylnitrat (Eumydrin)
3. Chlorpromazin hydrochlorid (Megaphen)

Mit Ausnahme von Arecolin hydrobromid und Chlorpromazin hydrochlorid wurden die angegebenen Dosen auf die Base berechnet. Die Substanzen wurden jeweils kurz vor Beginn des Versuches in 0,9 %iger Kochsalzlösung gelöst.

C. ERGEBNISSE

I. Tierversuche

1. Beschreibung des Versuchsablaufes beim Kaninchen

Nach der Präparation und Einführung der Elektroden wurde das Tier ein bis zwei Stunden in dem ruhigen, abgedunkelten Versuchsraum belassen, ehe mit der Ableitung des EEGs begonnen wurde. Die meisten Tiere zeigten nach dieser Zeit vorwiegend ein sogenanntes Schlaf-EEG; in den corticalen Ableitungen hohe, langsame Wellen und kurze Perioden mit hohen, schnellen Wellen (Schlafspindeln), in den Ableitungen von Hippocampus und Thalamus eine irreguläre Aktivität mit schnellen Wellen. Spontane EEG-Weckreaktionen, ausgelöst durch äußere Reize wie Anwesenheit des Untersuchers und Manipulationen am Tier, wurden durch vorsichtige Handhabung aller Geräte vermieden. Durch wiederholte Injektionen mit physiologischer Kochsalzlösung wurde geprüft, ob das Tier bereits auf den Injektionsreiz mit einer Aktivierung im EEG reagierte. Bei Tieren, die auch bei Ausschaltung äußerer Reize häufig spontane EEG-Weckreaktionen zeigten, konnte nach Verabfolgung kleiner Chlorpromazindosen (2 - 4 mg/kg) eine Stabilisierung des Schlaf-EEGs erzielt werden.

Anschließend wurde die Empfindlichkeit des Präparates an Hand der Schwellendosis für die zentrale Wirkung von Arecolin geprüft, d.h. es wurde die Dosis Arecolin ermittelt, die eine Änderung des elektroencephalographischen Bildes, eine sogenannte EEG-Weckreaktion bewirkte. Hierbei treten in den corticalen Ableitungen schnelle Wellen niedriger Spannung auf, in den Ableitungen von den tiefen Strukturen kommt es zu einer Regularisierung, Amplitudenerhöhung und Vorherrschen des Theta-Rhythmus (4 - 5 Hz).

Tiere, bei denen zur Auslösung einer EEG-Weckreaktion höhere Dosen als die in Tab. 1 für Arecolin angegebenen erforderlich waren, wurden verworfen. Die Empfindlichkeit des Präparates wurde im weiteren Verlauf des Versuches unter Umständen mehrmals kontrolliert.

Sobald die Arecolinwirkung abgeklungen war, wurde mit dem eigentlichen Versuch begonnen und die Schwellendosen der einzelnen Cholinomimetica bestimmt, die eine EEG-Weckreaktion und Speichelsekretion bewirkten. Die EEG-Kurven wurden subjektiv durch visuelle Beurteilung des Gesamtbildes ausgewertet. Als vollständige EEG-Weckreaktion wurde eine gleichzeitige Aktivierung in allen Ableitungen bezeichnet. Die Schwellendosis galt als erreicht, wenn bei der nächst höheren Dosis eine EEG-Weckreaktion von gleicher oder stärkerer Intensität (längere Dauer) auftrat.

2. Schwellendosen für zentrale und periphere Wirkungen an Kaninchen

Die zur Auslösung der EEG-Weckreaktion und der Speichelsekretion erforderlichen Dosen der einzelnen Cholinomimetica sind in Tabelle 1 auf S. 18 aufgeführt.

In 26 Versuchen wurde der Einfluß des Chlorpromazins auf die zentrale und periphere Wirksamkeit von Arecolin durch Bestimmung der Schwellendosen vor und nach Chlorpromazingabe untersucht. Es ergab sich nach 2 und 4 mg/kg Chlorpromazin eine durchschnittliche Erhöhung der zentral wirksamen Dosis von Arecolin um das 3 - 3,5fache, während die peripher wirksame Schwellendosis von Arecolin nach 2 mg/kg Chlorpromazin um das 1,5fache, nach 4 mg/kg um das 2,5fache anstieg. Bei RS 86 und Pilocarpin lag die Erhöhung der zentral und peripher wirksamen Schwellendosen in der gleichen Größenordnung. Dieses Ansteigen der Schwellendosen ist auf die schwache zentrale und periphere cholinolytische Wirkung von Chlorpromazin zurückzuführen (STEINER et al. 1962; COURVOISIER et al. 1953; KOPERA et al. 1954).

Wie aus der Tabelle ersichtlich, lagen bei Arecolin die zentral und peripher wirksamen Schwellendosen im gleichen Dosenbereich. In einigen Versuchen überwog vor Chlorpromazinverabfolgung die zentrale Wirksamkeit des Arecolins. Die mittlere Dauer der EEG-Weckreaktion betrug 3 Min. . Bei Oxo-Tremorin war die Schwelle für beide Wirkungen gleich, in zwei Versuchen trat bei der zentral wirksamen Schwellendosis noch keine Speichelsekretion auf. Die Dauer der EEG-Weckreaktion betrug im Mittel 8 - 10 Minuten, desgleichen bei RS 86. Bei dieser Substanz setzte die Speichelsekretion bereits nach Dosen ein, die zentral noch keine deutliche Wirkung zeigten. Bei Pilocarpin stand die periphere Wirksamkeit noch mehr im Vordergrund, nach Verabfolgung zentral wirksamer Dosen trat profuser Speichelfluß auf (3 - 7 ml in 10 Minuten), die zentrale Wirkung dauerte durchschnittlich 10 Minuten. Im Gegensatz zu diesen Substanzen bereitete die Schwellenbestimmung bei Muscarin und Muscaron Schwierigkeiten. Bei beiden Substanzen überwog die periphere Wirksamkeit außerordentlich stark; sehr kleine Dosen (0,1 - 0,2 Gamma/kg) bewirkten bereits eine Sekretion von 0,2 - 2,0 ml Speichel in 10 Minuten. Eine sichere zentral bedingte EEG-Weckreaktion konnte hingegen erst nach sehr viel höheren Dosen beobachtet werden. Diese hohen Dosen konnten jedoch nur unter Eumydrinschutz verabfolgt werden, da die starke Bradycardie und der Blutdruckabfall eine Erhöhung der Muscarineinzeldosis über 2 - 20 Gamma/kg und der Muscaroneinzeldosis über 3 Gamma/kg nicht erlaubte. Mit 1 mg/kg beginnend, wurden daher im Laufe des Versuches

Tabelle 1: Schwellendosen für die Auslösung der EEG-Weckreaktion und der Speichelsekretion (Gamma/kg)

	<u>Vor Chlorpromazin</u>		<u>Nach Chlorpromazin</u> ⁺⁺⁺		<u>Verhältnis zentrale/ periphere Wirksamkeit</u>
	<u>EEG-Weckreaktion</u>	<u>Speichelsekretion</u>	<u>EEG-Weckreaktion</u>	<u>Speichelsekretion</u>	
Arecolin	10 - 40 (31)	10 - 40 ⁺ (31)	40 - 160 (31)	20 - 160 (31)	1 : <1 - 1 : >1
Oxo-Tremotin			2,7 - 10,7 (5)	2,7 - 10,7 (4)	1 : 1
RS 86	25 (2)	12,5 (2)	50 - 100 (4)	12,5 - 25 (4)	1 : 2 - 1 : 8
Phloecarpin	40 - 80 (2)	20 - 40 (2)	320 - 640 (6)	40 - 80 (6)	1 : 2 - 1 : 12
Muscarin ⁺⁺	35 - 450 (3)		800 - 1600 (4)	0,1 - 0,2 (4)	1 : 350 - 1 : 10000
Muscaron ⁺⁺			200 - 800 (3)	0,1 (4)	1 : 2000 - 1 : 8000

⁺ 6 Tiere zeigten keine Speichelsekretion bei der Schwellendosis für die EEG-Weckreaktion

⁺⁺ Bei den höheren Dosen vorherige Verabfolgung von Eumydrin zur Ausschaltung der starken peripheren Wirkung,
3 - 8 mg/kg in den Muscarin-, 2 - 5mg/kg in den Muscaronversuchen

⁺⁺⁺ Bei Muscarin und Muscaron 4 - 12 mg/kg, bei den anderen Substanzen 2 - 4 mg/kg

In Klammern: Anzahl der Versuche. Das Verhältnis zentrale/periphere Wirksamkeit (letzte Spalte) gibt den Bereich des in den einzelnen Versuchen festgestellten Verhältnisses wieder.

insgesamt 2 - 8 mg/kg Eumydrin verabreicht und die zentral wirksame Arecolinschwellendosis jeweils erneut bestimmt, um die Empfindlichkeit des Präparates zu überprüfen. In der hier verwendeten Dosierung konnte eine stärkere Beeinflussung der zentralen Wirksamkeit von Muscarin und Muscaron durch Eumydrin ausgeschlossen werden (siehe Abschnitt C. I. 4.).

Nach kleinen Dosen Muscarin und Muscaron (0,8 - 10 Gamma/kg) trat zwar verschiedentlich eine kurze volle EEG-Weckreaktion auf, die sich aber bei weiterer Erhöhung der Dosis nicht wiederholte oder verstärkte. Nach mittleren Dosen wurde häufiger eine Abnahme der Amplitude in den corticalen Ableitungen und eine gewisse Synchronisierung der Hippocampus- und Thalamusaktivität beobachtet, das Vollbild der EEG-Weckreaktion entsprechend dem EEG-Bild nach Arecolin trat jedoch erst nach den in der Tab. 1 aufgeführten hohen Dosen auf. Diese EEG-Weckreaktionen dauerten durchschnittlich länger als 30 Minuten. Trotz dieser gewissen Schwierigkeit, die zentral wirksamen Schwellendosen von Muscarin und Muscaron im Einzelfall genau zu bestimmen, war in jedem Versuch der große Unterschied zwischen peripherer und zentraler Wirksamkeit dieser Substanzen offensichtlich.

3. Atropinantagonismus der Cholinomimetica

Die Frage einer zentralen nicotinartigen, d.h. atropinresistenten Wirkung der Cholinomimetica wurde in den Versuchen geprüft, in denen der Antagonismus gegenüber Atropin in einem möglichst breiten Dosenbereich untersucht wurde.

Hierzu wurden 15 Minuten nach Atropingabe im Akkumulativverfahren steigende Dosen der Cholinomimetica injiziert, bis wiederum eine EEG-Weckreaktion ausgelöst wurde. Die dazu notwendigen Dosen sind in Tab. 2 zusammengefaßt (S. 20), in Abb. 1 (S. 21) sind die Ergebnisse als Vielfache (Mittelwert) der jeweiligen zentral wirksamen Schwellendosen dargestellt.

Wie aus Tabelle und Abbildung ersichtlich, mußten bei allen Cholinomimetica mit Ausnahme von Nicotin die Schwellendosen beträchtlich erhöht werden, um die zentrale Wirkung von Atropin zu überwinden. Dabei waren nach 4 mg/kg Atropin sogar relativ höhere Dosen der Cholinomimetica notwendig als nach 1 mg/kg Atropin. Bei Oxo-Tremorin, das nur nach 1 mg/kg Atropin untersucht werden konnte, trat nach der Verabfolgung der Schwellendosis eine langanhaltende (> 40 Min.) EEG-Weckreaktion auf, die jedoch durch 4 mg/kg Atropin sofort gehemmt wurde. Auch bei RS 86 und Pilocarpin traten nach den zentral wirksamen Schwellendosen jetzt längere EEG-Weckreaktionen

Tabelle 2: Zentrale antagonistische Wirkung der Cholinomimetica gegenüber Atropin und Eumydrin

	A T R O P I N				
	0	1	5	13	32 mg/kg Akkumulativ Dosis
Arecolin	0,03 $\pm$ 0,01 (8)	0,5 $\pm$ 0,26 (8)	7,1 $\pm$ 1,8 (8)	17,5 $\pm$ 4,2 (8)	15,0 $\pm$ 5,0 (3)
Oxo-Tremorin	0,006 $\pm$ 0,004 (5)	0,18 $\pm$ 0,07 (5)			
RS 86	0,06 $\pm$ 0,03 (5)	0,7 $\pm$ 0,2 (4)	22 $\pm$ 8,8 (5)		
Pilocarpin	0,42 $\pm$ 0,28 (6)	6,6 $\pm$ 5,2 (6)	118 $\pm$ 32 (6)		
Nicotin	0,05 $\pm$ 0,03 (2)	0,18 $\pm$ 0,14 (2)	0,10 $\pm$ 0,10 (2)		
E U M Y D R I N					
Arecolin	0,04 $\pm$ 0,02 (6)	0,06 $\pm$ 0,05 (6)	0,04 $\pm$ 0,03 (5)	0,07 $\pm$ 0,06 (4)	0,66 $\pm$ 0,84 (5)

Die Tabelle gibt die Mittelwerte und deren Standardabweichungen wieder.

Oxo-Tremorin, RS 86 und Pilocarpin: Akkumulatvdosis in mg/kg

Arecolin und Nicotin: Einzeldosis in mg/kg

In Klammern: Anzahl der Versuche

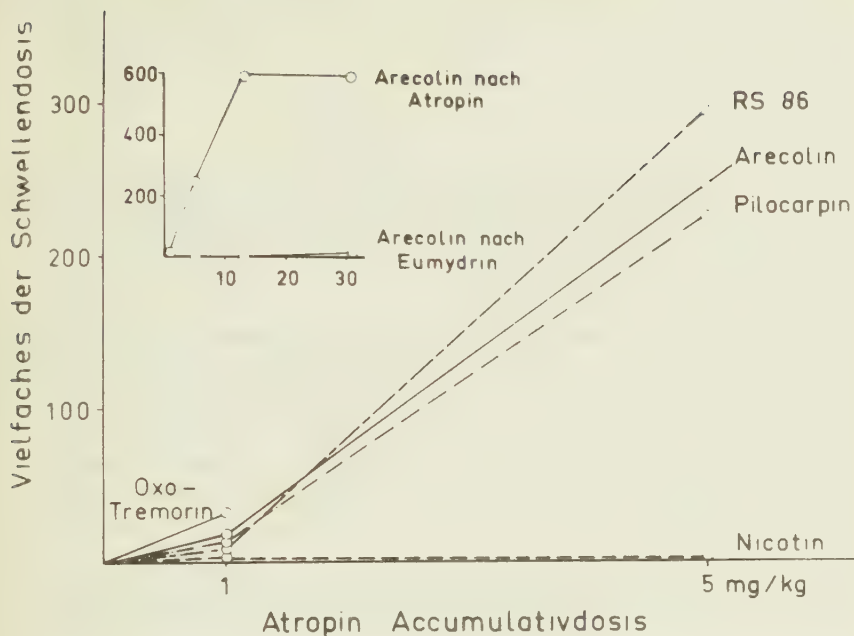


Abb. 1 Durch Verabfolgung von Atropin bedingte Erhöhung der Schwellendosen der Cholinomimetica, die eine EEG-Weckreaktion am Kaninchen auslösten.

Einsatzfigur: Der Einfluß höherer Dosen Atropin und Eumydrin auf die zentral wirksame Schwellendosis von Arecolin.

Ordinate: Effektivdosis, ausgedrückt als Vielfaches der vor Atropin bzw. Eumydrin wirksamen Dosis.

Abszisse: Akkumulativdosis von Atropin (bzw. Atropin oder Eumydrin in der Einsatzfigur)

(10 - 30 Min.) auf als nach den Schwellendosen vor Atropin. Bei Pilocarpin kam es in 3 Versuchen nach Verabfolgung von 160 - 480 mg/kg Pilocarpin, die zur Aufhebung der zentralen Wirkung von 5 - 13 mg/kg Atropin erforderlich waren, anstelle der EEG-Weckreaktion zu langanhaltenden, generalisierten Krampfantladungen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei diesen Substanzen in dem hier untersuchten Dosenbereich auf Grund der starken, nach höheren Dosen Atropin noch stärker ansteigenden Schwellenerhöhung der zentral wirksamen Dosen eine zentrale nicotinartige, d.h. atropinresistente Wirkungskomponente ausgeschlossen werden kann.

Die Untersuchung des Arecolin-Atropinantagonismus erstreckte sich über einen sehr großen Dosenbereich. Die Dosiswirkungskurve ergab einen steilen Anstieg der erforderlichen Arecolindosis bis zu einer Gesamtdosis von 13 mg/kg Atropin, darüber hinaus war eine weitere Erhöhung der Arecolindosis für die Auslösung einer EEG-Weckreaktion nicht notwendig. Dieser Befund läßt vermuten, daß Arecolin in hohen Dosen eine zentrale nicotinartige Wirkungskomponente besitzt.

In zwei zu Vergleichszwecken durchgeführten Versuchen mit Nicotin wurden nach kleinen Dosen kurzdauernde (15 - 80 Sek.) EEG-Weckreaktionen registriert, die durch Atropin nicht gehemmt wurden.

4. Zentrale Wirkung von Eumydrin

Da in den Versuchen mit Muscarin und Muscaron an Kaninchen höhere Dosen Eumydrin zur Ausschaltung der starken peripheren, vor allem der kardiovaskulären Effekte dieser Substanzen erforderlich waren, wurde die zentrale Wirkung von Eumydrin näher untersucht. Eine halbe Stunde nach Verabfolgung steigender Dosen Eumydrin (in Anlehnung an die Versuche von RIEHL et al. 1960) wurde die zur Auslösung einer EEG-Weckreaktion notwendige Arecolindosis bestimmt. Die Werte sind in der Tab. 2 mit aufgeführt. Erst nach einer Gesamtdosis von 32 mg/kg Eumydrin kam es zu einer geringen Erhöhung der Arecolinschwellendosis, die Dauer der EEG-Weckreaktion (durchschnittlich 2 - 4 Minuten) änderte sich nicht. Hingegen wurde durch 5 mg/kg Atropin die Schwellendosis von Arecolin bereits um das 200 - 400fache erhöht. So errechnet sich, verglichen mit Atropin, eine durchschnittlich 600mal schwächere zentrale Wirksamkeit von Eumydrin in unseren Versuchen am wachen, curarisierten Kaninchen (siehe Einsatzfigur Abb. 1). Wir schließen daraus, daß unter unseren

Versuchsbedingungen eine eventuelle Hemmung der zentralen Wirkung von Muscarin und Muscaron durch die Eumydringaben keine nennenswerte Rolle spielte.

5. Verhältnis zentrale/periphere Wirkung nach Atropin

Die nach Atropin zentral wirksamen Schwellendosen der Cholinomimetica überwandten zum Teil auch die periphere cholinolytische Wirkung. Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, in wieviel Versuchen außer der EEG-Weckreaktion gleichfalls Speichelsekretion auftrat. Es ergab sich eine ähnliche Relation bezüglich der zentralen zur peripheren Wirksamkeit der Substanzen wie bei der Schwellenbestimmung vor Atropin (siehe Tabelle 1).

Bei Arecolin und Oxo-Tremorin überwog ausschließlich die zentrale Wirksamkeit; in keinem der Versuche kam es nach Verabfolgung der zentral wirksamen Schwellendosis zu einer Speichelsekretion. Bei RS 86 wurde in 80 % der Versuche die zentrale und periphere Wirkung von Atropin (5 mg/kg) durch die gleiche Dosis aufgehoben. Noch ausgeprägter war dies bei Pilocarpin zu beobachten. Nach 5 mg/kg Atropin setzte in drei Versuchen die Speichelsekretion bereits nach zentral unwirksamen Dosen ein, durch die nächst höhere Dosis wurde dann auch die EEG-Weckreaktion ausgelöst. Das bei Atropin vorliegende Verhältnis zentrale/periphere cholinolytische Wirkung dürfte bei diesen Untersuchungen wesentlich sein.

Tabelle 3: Auslösung von Speichelsekretion durch die zentral wirksamen Schwellendosen nach Atropin. Erste Zahl: Anzahl der Versuche, bei denen Speichelsekretion auftrat.
Zweite Zahl: Jeweilige Gesamtzahl der Versuche

	A T R O P I N			
	1	5	13	32 mg/kg Akkumulativ-dosis
Arecolin	0/9	0/9	0/9	0/4
Oxo-Tremorin	0/6			
RS 86	1/5	5/6		
Pilocarpin	4/6	6/6		

6. Wirkungen der Cholinomimetica auf den Blutdruck

a. Blutdrucksenkung

Die nach Verabfolgung von Cholinomimetica auftretende Blutdrucksenkung beruht wohl auf einem peripheren muscarinartigen Mechanismus und ist durch eine Vasodilatation bedingt. Sie wurde in 95 % der Versuche nach Verabfolgung der peripher wirksamen Schwellendosen registriert. Sie setzte 5 - 20 Sekunden nach der Injektion ein. Die Maximalwerte betrugen im Mittel 20 - 40 % des systolischen Ausgangswertes. Die Dauer der maximalen Senkung schwankte zwischen 5 - 10 Sekunden. Dauer und Stärke der Blutdrucksenkung waren dosisabhängig. Durch gegenregulatorische Vorgänge stiegen die Blutdruckwerte meistens schnell wieder auf die Ausgangswerte an. Nach Atropin wurden nach Verabfolgung der Schwellendosen für die zentrale Wirkung in einem Drittel der Fälle in Stärke und Dauer abgeschwächte Blutdrucksenkungen registriert.

b. Blutdrucksteigerung

Neben der beschriebenen Blutdrucksenkung trat in einer großen Anzahl der Versuche auch eine Blutdrucksteigerung auf, die auf zwei verschiedenartige Mechanismen zurückgeführt werden kann:

b₁: Durch periphere nicotinartige Wirkung ausgelöste Blutdrucksteigerung

Die Unterscheidung nicotinartiger und muscarinartiger Wirkungen der Cholinomimetica bezieht sich auf die Atropinempfindlichkeit dieser Wirkungen; die muscarinartige wird durch Atropin gehemmt, die nicotinartige wird durch Atropin nicht beeinflusst.

Trat daher bei einem mit Atropin vorbehandelten Tier eine Blutdrucksteigerung vor der EEG-Weckreaktion oder nach zentral unwirksamen Dosen auf, so wurde dieses als eine nicotinartige Wirkung angesehen. Diese Art der Blutdrucksteigerung wurde jedoch nur gelegentlich nach hohen Dosen Arecolin (8 - 20 mg/kg) bei Vorbehandlung mit 5 - 13 mg/kg Atropin beobachtet (Abb. 2a). Sie setzte sofort nach oder sogar während der Injektion ein. In dem Großteil der Versuche mit Arecolin und bei den anderen Substanzen mit Ausnahme von Nicotin und DMPP trat diese nicotinartige Blutdrucksteigerung nicht auf, auch nicht in den Versuchen, die ohne Verabfolgung von Chlorpromazin durchgeführt wurden.

Bei dem zum Vergleich untersuchten Nicotin kam es nach Dosen, die keine oder nur eine unvollkommene EEG-Weckreaktion bewirkten, meistens zu einem 5 - 20 Sekunden nach der Injektion einsetzenden Blutdruckanstieg.

Nach DMPP (> 50 Gamma/kg), einem quaternärem Cholinomimeticum mit ganglienerregender, d.h. nicotinartiger Wirkung, stieg der Blutdruck nach Vorbehandlung mit Atropin (5 mg/kg) um 25-50 % des Ausgangswertes an, ohne daß eine Änderung des für Atropin charakteristischen EEG's auftrat.

Dieser Form der Blutdrucksteigerung dürfte ein peripherer nicotinartiger Mechanismus zu Grunde liegen.

b₂: Durch zentrale muscarinartige Wirkung ausgelöste Blutdrucksteigerung

Bei allen Cholinomimetica außer Nicotin und DMPP wurde in 30 - 80 % der Versuche nach Verabfolgung der Schwellendosen für die zentrale Wirkung ein Blutdruckanstieg über die Ausgangslage beobachtet, der in einer festen zeitlichen Abhängigkeit zu dem Einsetzen der EEG-Weckreaktion stand. Dabei hatten die Blutdruckwerte nach der hypotensiven Phase fast immer die Ausgangslage wieder erreicht, ehe die EEG-Weckreaktion und nachfolgend der Blutdruckanstieg auftraten. Oft ging die Blutdrucksenkung kontinuierlich in einen Blutdruckanstieg über. Die Latenz zwischen Auftreten der EEG-Weckreaktion und Beginn des Blutdruckanstiegs betrug im Mittel 2 - 5 Sekunden (Abb. 2 b). Nach schnellem Anstieg auf ein kurzzeitliches Maximum fiel der Blutdruck langsam auf die Werte vor der Injektion ab. Bei nur kurzer zentraler Wirkung wie zum Beispiel nach Arecolin trat zu diesem Zeitpunkt im EEG das Bild des Schlaf-EEGs wieder auf. Bei langanhaltenden EEG-Weckreaktionen überdauerten diese die Blutdrucksteigerung um ein Vielfaches. Diese Form der Blutdrucksteigerung wurde an Tieren mit und ohne vorheriger Chlorpromazingabe beobachtet.

Durch Atropin wurde nicht nur die EEG-Weckreaktion, sondern auch diese Blutdrucksteigerung aufgehoben. Bei Erreichen der nach Atropin erneut zentral wirksamen Schwellendosen der Cholinomimetica wurde sie jedoch noch häufiger (in etwa 70 %) als bei den Schwellendosen vor Atropin beobachtet. Die zeitliche Abhängigkeit blieb dabei unverändert.

Die stärksten pressorischen Wirkungen zeigte Arecolin (um 30 - 130 % des systolischen Ausgangswertes), aber auch R 86 (20 - 50 %) und Oxo-Tremorin (20 - 80 %) und etwas weniger ausgeprägt Pilocarpin (15 - 50 %) verursachten solche Blutdrucksteigerungen. In 5 von 9 Muscarin- und Muscaronversuchen trat sie gleichfalls auf. Diese Blutdrucksteigerung dürfte als eine zentrale muscarinartige Wirkung aufzufassen sein (siehe Diskussion).

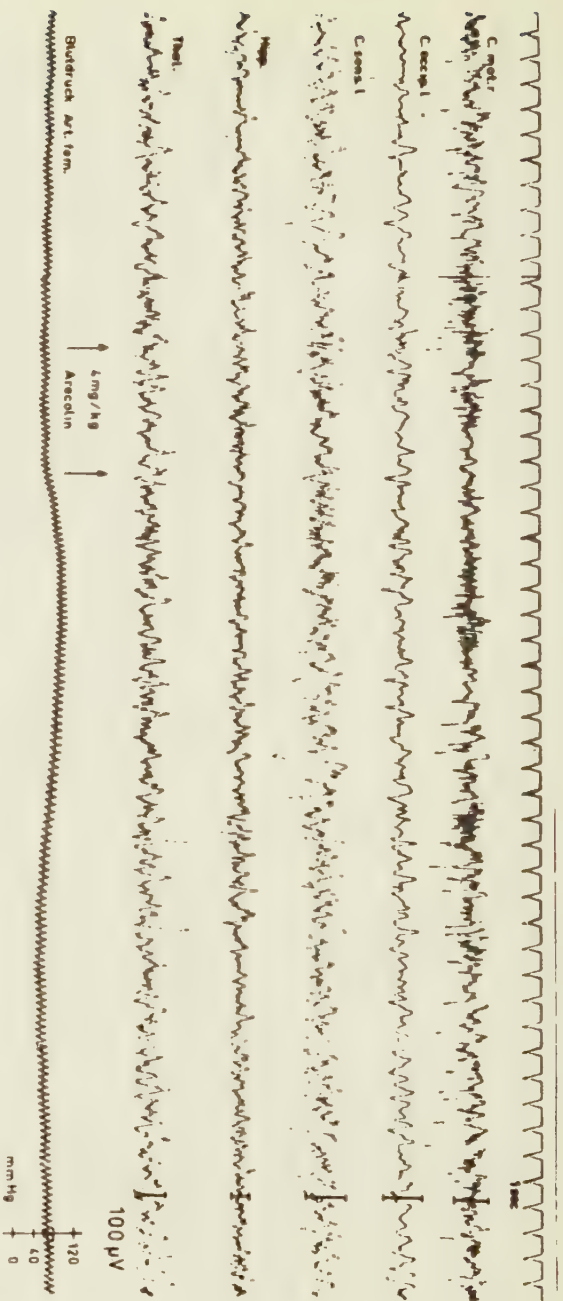


Abb. 2a und b:

Wirkung von Cholinomimetica auf den Blutdruck der Art. fem. in Abhängigkeit vom EEG am Kaninchen. Bipolare EEG-Ableitungen von motorischen Cortex (C. mot.), sensomotorischen Cortex (C. sens.), occipitalen Cortex (C. occip.) und medialen Thalamus (Thal.).

2a: Nicotinartige Blutdrucksteigerung nach 4 mg/kg Arecolin bei vorheriger Verabreichung von 13 mg/kg Atropin; keine wesentliche EEG-Veränderung.

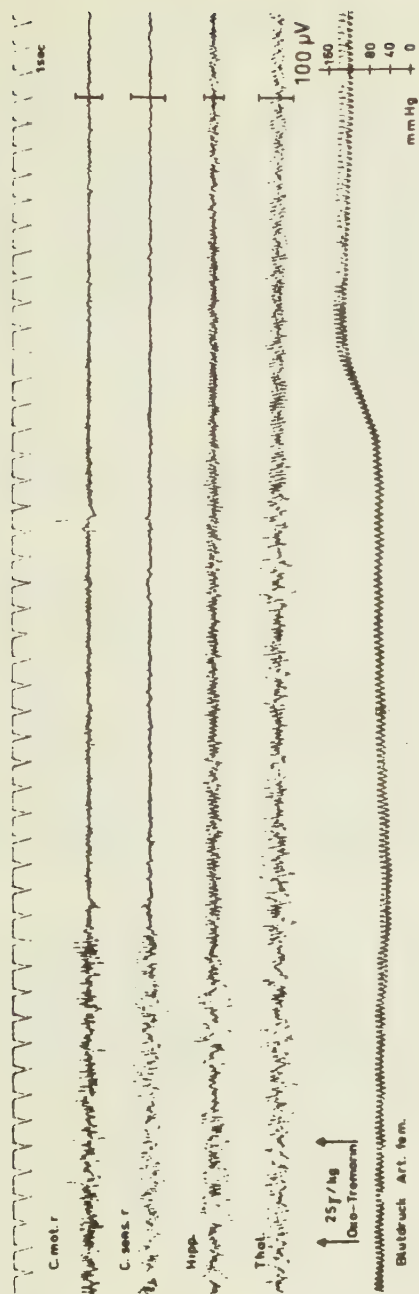


Abb. 2 b: Wirkung von Oxo-Tremorin auf den Blutdruck in Dosen, die eine EEG-Weckreaktion auslösen. Initiale Blutdrucksenkung gefolgt von Blutdruckerhöhung bei vollständiger EEG-Weckreaktion im Subcortex.

7. Wirkung von Arecolin und Muscarin an der Katze

Die von uns am Kaninchen beobachtete fehlende oder nur schwache zentrale Wirkung von kleinen Muscarindosen steht im Gegensatz zu Befunden von RIEHL et al. (1960, 1962) über die Auslösung von EEG-Weckreaktionen durch sehr kleine Muscaringaben (0,01 - 0,025 Gamma/kg) am encéphale isolé Präparat der Katze. Desgleichen beobachteten PAUL-DAVID et al. (1960) an der Katze eine zentrale Wirkung von Eumydrin, die nur etwa fünf mal schwächer war als die von Atropin. Diese unterschiedlichen Ergebnisse an Kaninchen und Katzen gaben den Anlaß zu eigenen orientierenden Versuchen am encéphale isolé Präparat der Katze.

Bei Arecolin erwiesen sich Dosen von 0,5 - 3,0 Gamma/kg als zentral wirksam, es traten EEG-Weckreaktionen von 15 - 120 Sek. Dauer auf. Durch 0,4 mg/kg Eumydrin wurde die zentral wirksame Schwellendosis von Arecolin (30 Min. nach der Injektion von Eumydrin bestimmt) um das 30 - 60fache, durch 3 mg/kg um das 100 - 300fache erhöht. Bei den Versuchen mit Muscarin wurden durch Dosen von 0,2 - 0,6 Gamma/kg EEG-Weckreaktionen hervorgerufen, die von unterschiedlicher Dauer waren (30 Sek. - 10 Min.). Nach kleineren Dosen (0,01 - 0,1 Gamma/kg) wurden in allen Versuchen zwar kurz anhaltende Aktivierungen im EEG beobachtet, die sich jedoch bei der nächst höheren Dosis nicht wiederholten oder - durch Zunahme der Dauer - verstärkten. In etwa 50 % der Fälle setzten sie gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung ein. Nach 0,2 mg/kg Eumydrin stieg die zentral wirksame Muscarinschwellendosis auf das 10 - 50fache, nach 0,4 mg/kg auf das 600fache an. Die Hemmung der peripheren Wirkungen durch Eumydrin wurde durch diese Dosen zum Teil gleichfalls aufgehoben, es erfolgte ein verschieden starker Blutdruckabfall.

Diese Ergebnisse an der Katze bestätigen eine Reihe der von RIEHL et al. (1960, 1962) und PAUL-DAVID et al. (1960) erhobenen Befunde. Ob jedoch die nach kleinen Muscarindosen auftretenden EEG-Weckreaktionen auf einer direkten zentralen Wirkung beruhten, erschien uns nicht sicher, da die durch Erhöhung der Dosis zu erwartende Verlängerung der Aktivierung im Gegensatz zu Arecolin nicht zu beobachten war (siehe Diskussion).

II. Ergebnisse der Bestimmung der Verteilungskoeffizienten

1. Die Verteilungskoeffizienten

Die Ergebnisse bei der Bestimmung der VK sind in der Tab. 4 zusammengefaßt. Es sind die Substanzen nach steigender Lipoidlöslichkeit angeordnet. Bei den quaternären Verbindungen Muscarin und Muscaron konnte kein Übertritt der Substanzen in die Lipidphase nachgewiesen werden. Bei der quaternären Verbindung DMPP konnte gleichfalls nur ein Maximalwert des VK bestimmt werden. Innerhalb der Gruppe der tertiären Amine zeigte sich eine deutliche Abstufung der VK, die sich über drei Zehnerpotenzen erstreckte. Von Interesse ist auch der relativ hohe VK von Nicotin, der mit anderen Eigenschaften dieser Substanz in Einklang steht (siehe Diskussion).

2. Beziehung zwischen Lipoidlöslichkeit und relativer zentraler Wirksamkeit der Cholinomimetica am Kaninchen

Die Beziehung des VK zu dem Verhältnis zentrale/periphere Wirkung der Cholinomimetica ist in der Abb. 3 dargestellt. Ihr liegen die Werte aus den Tabellen 1 und 4 zu Grunde, die in doppelt logarithmischem Maßstab aufgetragen wurden. Es ist eine klare Beziehung zwischen den beiden Größen ersichtlich. Die fast lipoidunlöslichen Substanzen Muscarin und Muscaron zeigen eine außerordentlich starke periphere Wirksamkeit; diese steht auch bei dem tertiären Amin Pilocarpin noch im Vordergrund. Bei RS 86 mit seinem um eine Zehnerpotenz höheren VK ist der Unterschied zwischen zentraler und peripherer Wirksamkeit nur mehr geringgradig, mit weiterem Ansteigen des VK wie bei den Substanzen Oxo-Tremorin und Arecolin besteht er nicht mehr. Bei letzterem überwog in einigen Versuchen sogar die zentrale muscarinartige Wirksamkeit.

Bei den Untersuchungen über den Atropinantagonismus der Cholinomimetica ergab sich eine ähnliche Abstufung im Wiederauftreten der peripheren und zentralen Wirkungen wie bei den Schwellendosen vor Atropin. Der VK von Atropin wurde in einer früheren Arbeit (HERZ et al. 1965) nach der gleichen Methode bestimmt. Er beträgt 0,00056, dieser Wert ist in der Abb. 3 durch einen Pfeil markiert. Bei Substanzen mit gleichem oder wenig höherem VK als Atropin setzten sich fast immer mit den zentralen Wirkungen auch die peripheren durch. Betrug jedoch der Größenunterschied der VK zwei Zehnerpotenzen wie bei Oxo-Tremorin und Arecolin, so waren nach Atropin die Schwellendosen für die zentrale Wirkung in der Peripherie ineffektiv.

Tabelle 4: Verteilungskoeffizient Heptan/Wasser bei pH 7,4

	VK (Mittelwert)	Mittlerer Fehler des Mittelwertes	Anzahl der Versuche	Ausgangskonz. (mg/ml)	Extinktionsbestimmung bei $m\mu$
Muscarin	< 0,000001		2	10 (Base)	-
Muscaron	< 0,000001		1	10 (Base)	-
DMPP	< 0,00002		2	0,05 (Salz)	285 / 276
Pilocarpin	0,00056	$\pm$ 0,00004	6	0,02 (Salz)	214 / 224
RS 86	0,0033	$\pm$ 0,0003	7	0,1 (Salz)	220 / 222
Oxo-Tremorin	0,040	$\pm$ 0,005	14	0,02 (Salz)	212 / 216
Arecolin	0,070	$\pm$ 0,001	6	1 (Salz)	252 / 256
Nicotin	0,16	$\pm$ 0,0006	7	0,1 (Salz)	255 / 260

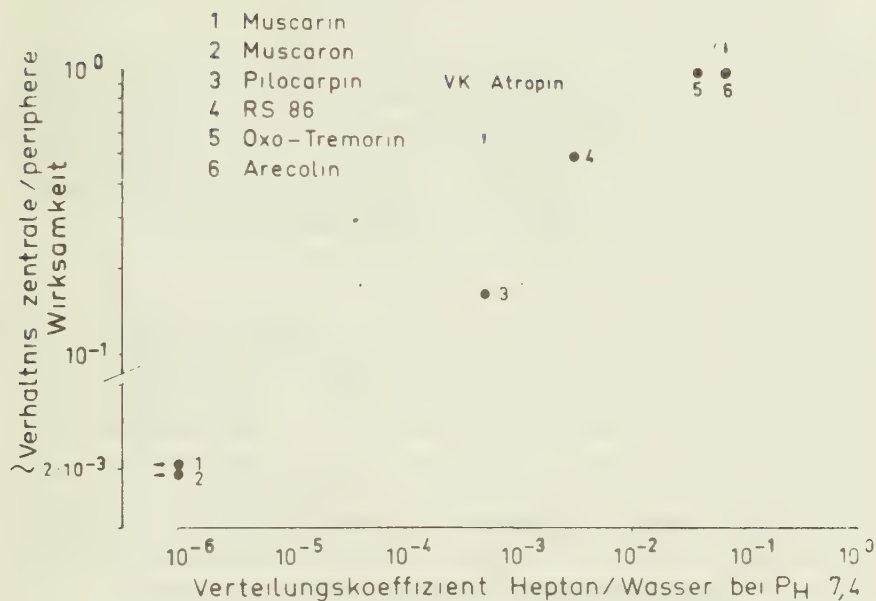


Abb. 3: Beziehung zwischen dem Verhältnis zentrale/periphere muscarinartige Wirkung am Kaninchen und dem Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser bei pH 7,4. Der Verteilungskoeffizient von Atropin ist gleichfalls eingezeichnet. Die Beobachtung, daß bei einem Teil der Versuche mit Arecolin die EEG-Weckreaktion auftrat, ohne daß eine Speichelsekretion ausgelöst wurde, ist durch (↑) gekennzeichnet.

D. DISKUSSION

I. Zentrale und periphere muscarinartige und nicotinartige Wirkungen der Cholinomimetica

In unseren Versuchen an Kaninchen zeigten die Substanzen Oxo-Tremorin, RS 86 und Pilocarpin im EEG keine zentralen, nicotinartigen Wirkungskomponenten. Desgleichen wurden Blutdrucksteigerungen, die auf einen peripheren nicotinartigen Mechanismus bezüglich ihrer Auslösung hingewiesen hätten, bei diesen Substanzen nicht beobachtet. Diese Ergebnisse stimmen überein mit Befunden über die peripheren Wirkungen von Pilocarpin an der Katze (EULER et al. 1945) und von Oxo-Tremorin an Hunden und Katzen (CHO et al. 1962).

Bei Arecolin hingegen konnte nach sehr hohen Dosen eine zentrale nicotinartige Wirkung - Auslösung einer EEG-Weckreaktion durch gleiche Dosen Arecolin bei Vorbehandlung mit steigenden Dosen Atropin - festgestellt werden, die auch an *encéphale isolé* Präparaten der Katze beobachtet wurde (RIEHL et al. 1960, 1962). Eine periphere nicotinartige Wirkung trat in unseren Versuchen nur in einem Teil der Fälle nach hohen Dosen Arecolin auf, erkennbar an einem Blutdruckanstieg ohne Änderung des elektroencephalographischen Musters. Die Untersuchung der peripheren Wirkungen von Arecolin an der Katze (EULER et al. 1945) führten zu Ergebnissen, die mit den unseren in Einklang stehen.

Eine ausgeprägte periphere nicotinartige Wirkung hatte DMPP, eine quaternäre Ammoniumverbindung mit ganglienerregender Wirkung, bei der wir, übereinstimmend mit KNAPP et al. (1962), nach Atropin starke Blutdrucksteigerungen ohne Aktivierung im EEG registrierten.

Nur Nicotin zeigte außer der peripheren auch eine starke zentrale nicotinartige, d.h. atropinresistente Wirkung. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Befunden anderer Untersuchungen (STUMPF 1959; LONGO 1962; KNAPP et al. 1962).

Bei dem Vergleich der Antimuscarinwirkung von Atropin und Eumydrin am Kaninchen ergab sich - in Einklang mit Untersuchungen von HERZ (1963) - bei den hier verwendeten Dosen kein Anhalt für eine zentrale Wirkung von Eumydrin. Es unterdrückte nur die peripheren muscarinartigen Wirkungen der Cholinomimetica, die EEG-Weckreaktion und die oft beobachtete nachfolgende Blutdrucksteigerung wurden nicht aufgehoben. Atropin hemmte auch diese Effekte. Aus diesem Ergebnis ist zu schließen, daß die Wirkung

der Cholinomimetica auf das EEG und den Blutdruck auf einem primär zentralen muscarinartigen Mechanismus beruht.

Die von anderen Untersuchern festgestellte pressorische Wirkung von Eserin an der Ratte wird von ihnen gleichfalls auf einen zentralen Mechanismus zurückgeführt (DIRNHUBER et al. 1955; HORNYKIEWICZ et al. 1956). VARAGIĆ (1955) nimmt an, daß Eserin außer der direkten zentralen Wirkung auf die Blutdruckregulation auch eine periphere Wirkung hat, die zu einer Katechinaminfreisetzung und somit zu einer Blutdrucksteigerung führt. Allein auf periphere Mechanismen - Adrenalinausschüttung - führt TRENDELENBURG (1961) eine nach Pilocarpin auftretende Blutdrucksteigerung an der Katze zurück, indem er der Substanz nicht-nicotinartige, ganglienstimulierende Eigenschaften zuschreibt. Möglicherweise spielen hier hinsichtlich des vorwiegend peripheren oder zentralen Angriffspunktes von Pilocarpin Speziesunterschiede eine Rolle (TRENDELENBURG 1961). Diese werden auch für den Mechanismus der pressorischen Wirkung von Histamin bei verschiedenen Tierarten vermutet (NARANJO et al. 1958).

Bei den Cholinomimetica ermöglicht die verschiedene Wirkung von Atropin und Eumydrin die sichere Unterscheidung direkter und indirekter zentraler Wirkungen. In anderen Substanzklassen ist diese Differenzierung oft sehr schwierig. Dieses zeigen z. B. die Diskussionen über die Korrelation von EEG-Weckreaktion und Blutdrucksteigerung nach Adrenalingabe.

Während CAPON (1960) und BAUST et al. (1963, 1964) annehmen, daß die EEG-Veränderungen vorwiegend auf der pressorischen Wirkung von Adrenalin beruhen, vermuten andere Untersucher, daß diese beiden Effekte unabhängig voneinander auftreten und die EEG-Weckreaktion entweder über eine "adrenerge Komponente" im reticulären aktivierenden System (GOLDSTEIN et al. 1961; ROTHBALLER 1956) oder durch Wirkung auf pontomesencephale Formationen ausgelöst wird (BONVALLET et al. 1954).

Während im EEG sich eine durch einen adrenergischen Mechanismus ausgelöste Weckreaktion nicht von einer auf einem cholinergen Mechanismus beruhenden Aktivierung unterscheidet, ergibt sich aus dem Verhalten des Tieres eine Differenzierungsmöglichkeit. Erstere geht mit einer Verhaltensänderung im Sinne einer Aktivierung einher (ROTHBALLER 1956), bei letzterer kommt es zu einer Dissoziation zwischen EEG und Verhalten des Tieres (WIKLER 1952; BRADLEY et al. 1957, 1958). Unsere Ergebnisse zeigen jedoch, daß die auf einem cholinergen Mechanismus beruhende EEG-Weckreaktion zumindest mit Veränderungen im Vegetativum (Blutdrucksteigerung) einhergehen kann. Die zentrale muscarinartige Wirkung der Cholinomimetica

scheint somit gleichzeitig Bahnen im aufsteigenden aktivierenden System und im absteigenden vasomotorischen System zu betreffen, eine Folgerung, die durch den Nachweis der Atropinempfindlichkeit beider Systeme (MARTIN et al. 1960) unterstützt wird.

II. Das Verhältnis zentrale/periphere muscarinartige Wirkung und die Beziehung zum Verteilungskoeffizienten

In den zahlreichen Untersuchungen über die Permeation von Pharmaka in das ZNS wurden meist mit analytischen Methoden die Substanzkonzentrationen im Liquor oder Gehirn bestimmt. Der Nachweis einer Substanz in einem Gewebe schließt aber nicht ein, daß diese auch zu ihrem eigentlichen Wirkungs-ort - Synapse, Membran und dergleichen - gelangt ist. Dieses wäre bei dem Auswerten der Wirkungen der Fall. Wir sahen daher in der Untersuchung der zentralen Wirksamkeit von Pharmaka eine andere Möglichkeit, eine Aussage über den Eintritt von Substanzen in das ZNS zu machen. Die berechnete Annahme eines im ZNS und in der Peripherie grundsätzlich ähnlich beschaffenen Muscarinrezeptors (siehe Einleitung) schien bei den Cholinomimetica quantitative Wirkungsvergleiche zu ermöglichen. Als Maß der zentralen Wirksamkeit wurde der Quotient zentrale/periphere Wirkung ("relative" zentrale Wirksamkeit) bestimmt und dieser, wie in anderen Arbeiten die Substanzkonzentration (BRODIE et al. 1960; FIREMARK et al. 1963), zu der Lipoidlöslichkeit der Substanz in Beziehung zu setzen versucht.

Arbeiten mit der gleichen oder ähnlichen Fragestellung sind bislang nur vereinzelt erschienen, abgesehen von den Untersuchungen über den starken Abfall der zentralen Wirkung bei Aminen mit quaternär gebundenem Stickstoff, der für verschiedene Pharmaka nachgewiesen wurde (HORNYKIEWICZ et al. 1956; KOELLE et al. 1956; ZEJMAL et al. 1961). Wie bereits erwähnt (S. 9), wurde bei einer Anzahl von Cholinolytica eine eindeutige Korrelation zwischen der relativen zentralen Wirksamkeit und dem VK gefunden.

Auch in der vorliegenden Untersuchung einiger Cholinomimetica ist die Abhängigkeit der "relativen" zentralen muscarinartigen Wirksamkeit von der Lipoidlöslichkeit der Substanz offensichtlich. Dieses gilt nicht nur für Verbindungen mit tertiärer und quaternärer Aminstruktur, sondern auch innerhalb der Gruppe der tertiären Amine steigt die zentrale Wirksamkeit mit Zunahme des VK an. Wie in der Einleitung ausgeführt, bestimmt die Lipoidlöslichkeit einer Substanz vor allem die Geschwindigkeit ihrer Permeation in das ZNS, und zwar 1. den Durchtritt durch die Blut-Gehirn-Schranke und 2. den Zutritt zum Rezeptor. Im Gehirn scheint nämlich zumindest ein Teil der Synapsen von besonderen Diffusionsschranken umgeben zu sein, für die es bis jetzt zwar noch kein sicheres strukturelles Korrelat gibt, die aber möglicherweise

auch lipoider Natur sind (ECCLES 1960; DeROBERTS et al. 1961; McLENNAN 1963).

Auch Substanzen mit sehr kleinem Verteilungskoeffizienten müßten eigentlich bei längerer Aufrechterhaltung einer ausreichenden Plasmakonzentration auf Grund des Konzentrationsgefälles in das ZNS übergehen und zentrale Wirkungen auslösen können.

In der Regel dürften aber Faktoren wie Abbau, Ausscheidung und Speicherung rasch zu einem Absinken der Substanzkonzentration an der BGS führen. In unserer Versuchsanordnung, bei der mit Ausnahme von Arecolin im Abstand von 10 Min. logarithmisch ansteigende Dosen der Cholinomimetica verabfolgt wurden, war die Beobachtungszeit zur Feststellung der Wirkung der Einzeldosis begrenzt. Andererseits dürften aber durch die relativ schnelle Erhöhung der Plasmakonzentration Unterschiede in der Eliminationsgeschwindigkeit der Substanzen weniger ins Gewicht fallen. Dafür sprechen auch unsere Versuchsergebnisse, in denen trotz der verschiedenen Wirkungsdauer der Substanzen die Abhängigkeit der relativen zentralen Wirksamkeit von der Lipoidlöslichkeit deutlich wurde.

Als Maß der Lipoidlöslichkeit diene der VK der Substanz zwischen Heptan und Puffer von pH 7,4. Gegen die Verwendung von solchen unpolaren Lösungsmitteln wie Heptan, Benzol und Chloroform kann der Einwand erhoben werden, daß diese nicht den hochstrukturierten Gehirnlipoiden gleichzusetzen sind und sie somit nicht genau die Lösungseigenschaften einer Lipoidmembran wiedergeben können (SCHANKER 1962; FIREMARK et al. 1963). Die besonderen Verhältnisse beim Übertritt von Substanzen durch die BGS sind schon differenzierter, als daß sie mit dem einfachen System Heptan/Wasser allein verglichen werden könnten. Faktoren wie die cerebrale Blutzirkulation, aktive Transportmechanismen und die Bindungskapazität der im Gehirn enthaltenen Proteine und Lipoproteide werden wesentlich den Eintritt und die Anreicherung von lipoidlöslichen Substanzen im ZNS beeinflussen (HANSSON et al. 1962; SCHANKER 1962; DOBBING 1963; FIREMARK et al. 1963). Untersuchungen an Kaninchen, in denen neben der zentralen Wirksamkeit und der Lipoidlöslichkeit auch die Gehirn- und Plasmabildung von Purinderivaten bestimmt und zueinander in Beziehung gesetzt werden, werden zur Zeit von HERZ und HESS (1967) durchgeführt.

Im Gegensatz zu diesen aufwendigen und langwierigen Versuchen kann jedoch die Bestimmung des VK mit relativ einfachen Mitteln durchgeführt werden. Es wird deshalb angeregt, bei der Entwicklung neuer Pharmaka mit zentralem Angriffspunkt den VK routinemäßig zu bestimmen, um gewisse Rückschlüsse auf die Permeationsgeschwindigkeit der Verbindungen in das ZNS ziehen zu können.

III. Vergleich der Ergebnisse an Katzen und Kaninchen

Übereinstimmend mit den Befunden von RIEHL et al. (1960, 1962) und PAUL-DAVID et al. (1960) rief Eumydrin an der Katze zentrale Wirkungen hervor, die am Kaninchen nicht beobachtet wurden. Dieser Unterschied könnte durch eine geringere Wirksamkeit der BGS bei Katzen erklärt werden, so daß die BGS-Phänomene bei ihnen weniger in Erscheinung treten als bei Kaninchen. Speziesdifferenzen in der Gehirnpermeabilität werden auch von KNAPP et al. (1963) bei Versuchen mit Adrenalin, Serotonin und Nicotin an höheren Säugetieren vermutet.

Andererseits sind die unterschiedlichen Versuchsanordnungen zu bedenken. Die Versuche an Kaninchen wurden an intakten Tieren, die an Katzen am *encéphale isolé* Präparat durchgeführt. Die Herstellung des *encéphale isolé* ist ein großer Eingriff, bei dem es einerseits bei der Eröffnung des Liquorraumes in diesen hineinbluten kann, andererseits infolge des Operationschocks ein plötzliches Durchlässigwerden der BGS denkbar ist. Die intravenös verabfolgten Substanzen könnten in den Liquor übergehen und von der Oberfläche aus direkt in das Gehirn permeieren. Dieses würde eine Umgehung der BGS und möglicherweise eine längere Kontaktdauer zwischen Substanz und Gehirnoberfläche bedeuten (DOBBING 1961). Dadurch würden aber gänzlich andere Voraussetzungen für Substanzen geschaffen, die nach intravenöser Applikation keine oder nur geringe zentrale Wirkungen hervorrufen. Bei dem Vergleich von tertiären und quaternären Ammoniumverbindungen wurde z. B. eine große Wirkungsdifferenz zu Gunsten der tertiären Verbindungen nach intravenöser, aber gleiche zentrale Wirksamkeit nach intraventrikulärer Applikation beobachtet (ZEJMAL et al. 1961; KOELLE et al. 1956). Die zentrale Wirkung von Eumydrin an der Katze könnte somit auch auf der Umgehung oder der zeitweiligen Durchlässigkeit der BGS beruhen.

Die zentral wirksamen Schwellendosen von Muscarin an der Katze lagen in unseren Versuchen höher als die von RIEHL et al. (1960, 1962) angegebenen Dosen. Die von uns nach kleineren Dosen beobachteten kurzen EEG-Weckreaktionen konnten nicht mit Sicherheit auf eine direkte zentrale Wirkung der Substanz zurückgeführt werden. Es ist denkbar, daß diese EEG-Aktivierungen primär in der Peripherie durch Wirkung auf das cardiovasculäre System oder durch Erregung sensibler Rezeptoren über die Hirnnerven reflektorisch ausgelöst wurden. Auf die Schwierigkeit, direkte und indirekte Wirkungen auf die elektrische Aktivität des Gehirns zu unterscheiden, wurde bereits an früherer Stelle hingewiesen (siehe Seite 33).

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die zentrale und periphere Wirkung von Cholinomimetica wurde an wachen curarisierten Kaninchen untersucht. Zur Abgrenzung der nicotinartigen, d.h. atropinresistenten von den muscarinartigen Wirkungen dieser Substanzen wurde ihr Antagonismus gegenüber Atropin in einem möglichst breiten Dosisbereich geprüft.

Die zentrale muscarinartige Wirkung äußerte sich im EEG in einer Weckreaktion. Als Maß der peripheren muscarinartigen Wirkung diente die Auslösung von Speichelsekretion. Es wurden die Schwellendosen für das Auftreten der EEG-Weckreaktion und der Speichelsekretion bestimmt und das Verhältnis zentrale/periphere muscarinartige Wirkung ("relative" zentrale Wirksamkeit) dann zu der Lipidlöslichkeit der Substanzen in Beziehung gesetzt. Als Maß der Lipidlöslichkeit wurde der Verteilungskoeffizient der Substanz zwischen n-Heptan und Phosphatpuffer von pH 7,4 verwandt.

Bei Arecolin und Oxo-Tremorin lagen die peripher und zentral wirksamen Schwellendosen in dem gleichen Bereich, bei RS 86 und Pilocarpin überwog die periphere Wirkung. Bei Muscarin und Muscaron traten bereits nach sehr kleinen Dosen starke periphere Wirkungen auf, während sichere zentrale Wirkungen erst durch sehr hohe Dosen hervorgerufen wurden. Bei allen Substanzen glich das Verhältnis zentrale/periphere Wirkung dem, das sich nach der Verabfolgung von Atropin aus den neu ermittelten Schwellendosen ergab.

Eine zentrale nicotinartige (atropinresistente) Wirkung wurde nur bei Arecolin in sehr hoher Dosierung und bei Nicotin festgestellt. Eine periphere nicotinartige Wirkung (Blutdrucksteigerung ohne gleichzeitiges Auftreten einer EEG-Weckreaktion) wurde bei DMPP und inkonstant nach hohen Dosen Arecolin beobachtet.

Bei allen Cholinomimetica wurde häufig mit der EEG-Weckreaktion eine nach kurzem zeitlichen Abstand einsetzende Blutdrucksteigerung registriert, die ebenso wie die Aktivierung im EEG atropinempfindlich war. Sie wurde als eine zentrale muscarinartige Wirkung angesehen.

Orientierende Untersuchungen am *encéphale isolé* Präparat der Katze zeigten, daß Muscarin erst nach höheren Dosen eine zentrale Wirkung auslöste, Eumydrin indessen bereits nach kleinen Dosen die zentrale muscarinartige Wirkung von Arecolin hemmte. Am Kaninchen hingegen wurde nur nach sehr hohen Dosen ein schwach ausgeprägter derartiger Effekt festgestellt.

Die VK lagen bei den Verbindungen mit einer tertiären Aminogruppe im

Bereich von 10^{-1} bis 10^{-4} , bei Muscarin und Muscaron-Substanzen mit gebundenem Stickstoff - konnte nur jeweils ein Maximalwert von $< 10^{-6}$ ermittelt werden. Dem entsprach eine geringe zentrale Wirksamkeit dieser Substanzen am Kaninchen. Mit der Zunahme des Koeffizientenwertes bei den tertiären Stickstoffverbindungen war ein Anstieg der relativen zentralen Wirksamkeit zu verzeichnen.

Die Ergebnisse werden mit den Angaben anderer Untersucher verglichen. Wirkungsmechanismen und unterschiedliche Befunde bei Katzen und Kaninchen werden diskutiert hinsichtlich einer verschiedenen starken Ausprägung der Blut-Gehirn-Schranke, Art der Versuchsanordnung und Auslösung der EEG-Weckreaktion durch reflektorische Beeinflussung des ZNS. Die Bedeutung physikalisch-chemischer Eigenschaften bei Pharmaka mit zentraler Wirksamkeit wird besprochen.

Herrn Professor Dr. G. PETERS, Direktor des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie (Deutsche Forschungsanstalt für Psychiatrie) danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut.

Herrn Professor Dr. A. HERZ danke ich für die Überlassung des Themas und besonders für die stete freundliche Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern, insbesondere Frau I. Niedner für die Hilfe bei der Vorbereitung der Tierversuche und Herrn Dr. H. Teschemacher für die Anleitung bei den spektrophotometrischen Messungen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

- BAUST, W., H. NIEMCZYK and J. VIETH: *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 15, 63 (1963)
- BAUST, W. and H. NIEMCZYK: *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 17, 261 (1964)
- BONVALLET, M., P. DELL and G. HIEBEL: *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 6, 119 (1954)
- BRADLEY, P. B. and J. ELKES: *Brain*, Vol. LXXX, 77 (1957)
- BRADLEY, P. B. and B. J. KEY: *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 10, 97 (1958)
- BRODIE, B. B., H. KURZ and L. S. SCHANKER: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 130, 20 (1960)
- CAPON, A.: *Arch. int. Pharmacodyn.* 127, 141 (1960)
- CHO, A. K., W. L. HASLETT and D. J. JENDEN: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 138, 249 (1962)
- COURVOISIER, S., J. FOURNEL, R. DUEROT, M. KOLSKY and P. KOETSCHET: *Arch. int. Pharmacodyn.* 92, 305 (1952)
- CURTIS, D. R. and R. M. ECCLES: *J. Physiol.* 141, 446 (1958)
- DALE, H. H.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 6, 147 (1914)
- DAVSON, H., C. F. KLEEMAN and E. LEVIN: *First Intern. Pharmacol. Meeting 4. Drugs and Membranes*, 71. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press (1963)
- DIRNHUBER, P. and H. CULLUMBINE: *Brit. J. Pharmacol.* 10, 12 (1955)
- DOBBING, J.: *Physiol. Rev.* 41, 130 (1961)
- DOBBING, J.: *Guy's Hospital Reports* 112, 267 (1963)
- ECCLES, J. C.: London. Oxford: Univ. Press (1960)
- EULER v. U. S. and B. DOMEIJ: *Acta pharmacol. (Kbh.)* 1, 263 (1945)
- FIREMARK, H., C. F. BARLOW and L. J. ROTH: *Int. J. Neuropharmacol.* 2, 25 (1963)
- FUNDERBURK, W. H. and T. J. CASE: *J. Neurophysiol.* 10, 179 (1947)

- GOLDSTEIN, L. and C. MUNOZ: J. Pharmacol. exp. Ther. 132, 345 (1961)
- HANSSON, E. and C. G. SCHMITERLÖW: J. Pharmacol. exp. Ther. 137, 91 (1962)
- HERZ, A.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 242, 414 (1962)
- HERZ, A.: Int. J. Neuropharmacol. 2, 205 (1963)
- HERZ, A.: Arch. int. Pharmacodyn. 141, 595 (1963)
- HERZ, A., H. TESCHEMACHER, A. HOFSTETTER and H. KURZ: Int. J. Neuropharmacol. 4, 207 (1965)
- HORNYKIEWICZ, O. and W. KOBINGER: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 228, 493 (1956)
- KNAPP, D. E. and E. F. DOMINO: Int. J. Neuropharmacol. 1, 333 (1962)
- KNAPP, D. E. and E. F. DOMINO: Int. J. Neuropharmacol. 2, 51 (1963)
- KOELLE, G. B. and E. C. STEINER: J. Pharmacol. exp. Ther. 118, 420 (1956)
- KOPERA, J. and A. K. ARMITAGE: Brit. J. Pharmacol. 9, 392 (1954)
- LONGO, V. G.: Electroencephalographic atlas for pharmacological research, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, New York (1962)
- MARK, L. C., J. J. BURNS, L. BRAND, C. J. CAMPOMANES, N. TROUSOF, E. M. PAPPER and B. B. BRODIE: J. Pharmacol. exp. Ther. 123, 70 (1958)
- MARTIN, W. R. and C. G. EADES: Psychopharmacologia (Berl.) 1, 303 (1960)
- MAYER, S. E. and J. A. BAIN: J. Pharmacol. exp. Ther. 118, 17 (1956)
- MAYER, S., R. P. MAICKEL and B. B. BRODIE: J. Pharmacol. exp. Ther. 127, 205 (1959)
- McLENNAN, H.: Synaptic transmission, London: W. B. Saunders (1963)
- MONNIER, M. and H. GANGLOFF: Atlas for stereotaxic brain research on the conscious rabbit. Elsevier Publishing Company, Amsterdam (1961)
- NARANJO, P. and E. B. NARANJO: J. Pharmacol. exp. Ther. 123, 16 (1958)

- PAUL-DAVID, J., J.L. RIEHL and K.R. UNNA: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 129, 69 (1960)
- PFEIFFER, C.C. and E.H. JENNEY: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 66, 753 (1957)
- RALL, D.P. and C.G. ZUBROD: *An. Rev. Pharmacol.* 2, 109 (1962)
- RIEHL, J.L. and K.R. UNNA: *Recent advances in biological psychiatry*, p. 345. New York: Grune and Stratton (1960)
- RIEHL, J.L., J. PAUL-DAVID and K.R. UNNA: *Int.J. Neuropharmacol.* 1, 393 (1962)
- RINALDI, F. and H.E. HIMWICH: *A.M.A. Arch. Neurol. Psych.* 73, 387 (1955)
- ROBERTIS, E. de and H.M. GERSCHENFELD: *Int. Rev. Neurobiol.* 3, 1 (1961)
- ROTHBALLER, A.B.: *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 8, 603 (1956)
- SCHANKER, L.S.: *Pharmacol. Rev.* 14, 501 (1962)
- SCHANKER, L.S.: *Advances in drug research*. Academic Press, London, p. 72 (1954)
- STEINER, W.G. and H.E. HIMWICH: *Science* 136, 873 (1962)
- STUMPF, Ch.: *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* 235, 421 (1959)
- TESCHEMACHER, H.: *Inauguraldissertation*, München (1966)
- TRENDELENBURG, U.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 131, 65 (1961)
- VARAGÍC, V.: *Brit. J. Pharmacol.* 10, 349 (1955)
- VOLLE, R.L.: *Pharmacology of Cholinergic and Adrenergic Transmission*. Oxford: Pergamon Press (1965)
- WERNER, G. und R. WÜRKER: *Naturwissenschaften* 46, 627 (1959)
- WIKLER, A.: *Proc. Soc. exp. Biol.* 79, 261 (1952)
- ZEJMAL, E.V. and Z. VOTOVA: *Activitas nervus super.* 3, 276 (1961)

LEBENS LAUF

Am 13. Juni 1930 wurde ich als zweites Kind des damaligen Zollinspektors Hans Holzhäuser und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Ohms, in Braunschweig geboren.

Von Ostern 1936 - 1940 besuchte ich die Volksschule in Bocholt/Westfalen. Der Beruf meines Vaters und die Kriegsunruhen waren die Ursache für den häufigen Wechsel unseres Wohnortes in den Jahren 1940 - 1945, in denen ich Mädchen-erschulen in Bochum, Braunschweig, Troppau und Potsdam besuchte. Von November 1945 bis März 1949 war ich Schülerin der Oberschule für Mädchen, Kleine Burg, in Braunschweig und erhielt dort das Zeugnis der Reife.

Nach einer dreijährigen Ausbildung in der Krankenpflege in Nordwestengland bestand ich im Oktober 1952 das englische Staatsexamen für Krankenschwestern. Im Frühjahr 1953 begann ich eine Ausbildung zur Chemotechnikerin an der privaten Chemiefachschule Dr. Poulsen Nautrup in Hannover, die ich Ostern 1955 mit dem Staatsexamen abschloß. Es folgten fünf-einhalb Jahre Tätigkeit auf dem Gebiet der organisch-präparativen Chemie in der pharmazeutisch-wissenschaftlichen Abteilung der Kali-Chemie AG in Hannover.

Zum Wintersemester 1960/61 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München für das Studium der Medizin. Hier legte ich nach dem Wintersemester 1962/63 die ärztliche Vorprüfung und nach dem Sommersemester 1966 das Staatsexamen ab.

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistentin an der II. Medizinischen Klinik der Universität München.

